Aus der medizinischen Universitätsklinik in Bern
(Direktor Prof. Dr. W. Frey)

Eine stufenphotometrische Bestimmung des Inulin in Blut und Urin und ihre Anwendung zur Nierenfunktionsprüfung

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von
ERNST SANZ
aus Bern

Gedruckt bei Stämpfli & Cie., Bern 1943

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546502_0056

Aus der medizinischen Universitätsklinik in Bern
(Direktor Prof. Dr. W. Frey)

Eine stufenphotometrische Bestimmung des Inulin in Blut und Urin und ihre Anwendung zur Nierenfunktionsprüfung

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

ERNST SANZ
aus Bern

Gedruckt bei Stämpfli & Cie., Bern 1943

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Walter Frey von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 10. Februar 1943.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. *A. von Muralt.*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung 5

II. Die Methode 7

A. Prinzip 7

B. Der klinische Teil 9

C. Der chemisch-physikalische Teil 11

D. Die rechnerische Ermittlung der Inulinclearence . . . 19

E. Einige Resultate und ihre Besprechung 22

III. Diskussion 26

A. Kritik der Methode 26

B. Bedeutung der Inulinclearence 30

IV. Zusammenfassung 31

Literaturverzeichnis 33

I. Einleitung

Die moderne Nierenphysiologie ist bestrebt, die verschiedenen Komponenten der Nierenfunktion, wie Filtration, Resorption und eventuelle Sekretion, getrennt zu fassen. Zu diesem Zweck wurde in letzter Zeit, besonders in USA, nach einem Stoff gefahndet, der das Glomerulusfilter passiert, dagegen von den Tubuli weder sezerniert noch rückresorbiert wird. Die Versuche mit endogenen Stoffen, wie Harnstoff (1) und Kreatinin (2), haben nicht befriedigt, weshalb mit körperfremden Stoffen, wie Xylose (3), weitere Versuche unternommen wurden. In letzter Zeit wurde von amerikanischen Autoren dem sogenannten *Inulin* ein grosses Interesse entgegengebracht.

Inulin ist ein hochmolekulares, aus Fruktose aufgebautes Polysaccharid. Das Wirbeltier besitzt im Gewebe oder im Blut keine Fermente, die diesen Stoff anzugreifen vermöchten (3). Deshalb wird dieser Stoff, intravenös eingespritzt, sehr schnell ausgeschieden. Dies geschieht durch die Nieren. Man fand auch (3), dass dieser Stoff durch eine eiweissundurchlässige Kollodiummembran permeabel ist und dass er auch den Glomerulusfilter von Amphibien passiert. Die aglomeruläre Niere (z. B. von Batrachus Tau = toadfish) vermag Inulin nicht auszuscheiden. Studien an Säugetieren (3) ergaben: Inulin tritt quantitativ durch den Glomerulus in das Glomerulusfiltrat über; es wird von den Tubuli nicht rückresorbiert; eine Sekretion von den Tubuli aus findet nicht statt (4).

Diese Verhältnisse ändern sich weder beim normalen Menschen (5) noch beim Hypertoniker und Nephritiker (6).

Auf Grund dieser Tatsachen ergibt sich, dass sich aus der Inulinkonzentration im Urin und im Blut direkt die Anzahl der cm^3 Plasma errechnen lässt, die durch die Glomeruli geflossen und von ihrem Inulingehalt befreit worden sind.

Nämlich es sei:

I_p = mg% Inulin im Plasma,
I_u = mg% Inulin im Urin,
V_u = cm^3 Urin/min.,
V_p = cm^3 Plasma, das pro Min. von seinem Inulingehalt durch Ultrafiltration befreit wird.

Die Urinmenge pro Min. (V_u), multipliziert mit dem Inulingehalt des Urins (I_u), ergibt die pro Minute ausgeschiedene Menge Inulin. Sie muss gleich sein der pro Minute durch die Glomeruli abfiltrierten Menge Inulin.

Als Gleichung geschrieben:

$$I_u \cdot V_u = I_p \cdot V_p$$

oder: $$V_p = \frac{I_u \cdot V_u}{I_p}$$

Diese Grösse nennen die Amerikaner *die Inulinclearence*.

Da Inulin völlig frei filtrierbar ist und nur durch die Glomeruli filtriert wird (7), muss die Inulinkonzentration im Glomerulusfiltrat im wesentlichen dieselbe sein wie die Plasmainulinkonzentration im Vas afferens. Des-

halb wird allgemein V_p auch dem pro Minute gebildeten Glomerulusfiltrat gleichgesetzt. Somit ist V_p = die pro Minute durch beide Nieren hergestellte Menge Glomerulusfiltrat in cm^3.

Daraus folgt: $V_p - V_u = V_w$ (= das von den Tubuli rückresorbierte Wasser)

oder: $\frac{(V_p - V_u) \cdot 100}{V_p}$ = das Rückresorbat R in %.

Die nun im folgenden zu beschreibende Methode dient zur Bestimmung der Inulinkonzentration im Blut und Urin. Wir sind ausgegangen von der durch Alving, Müller und Rubin (8) ausgearbeiteten kolorimetrischen Bestimmungsmethode, welche auf einer lichtelektrischen Messung mit dem Evelyn-Colorimeter beruht. Unsere Aufgabe bestand nun darin, eine *stufenphotometrische*, klinisch anwendbare Bestimmungsmethode des Inulins auszuarbeiten.

II. Die Methode

A. Das Prinzip

a) Klinische Aufgabe: Die Bestimmung der für die Berechnung des Glomerulusfiltrates notwendigen Grössen (V_u, I_p, I_u) ist an bestimmte Voraussetzungen gebunden. Es handelt sich darum, durch intravenöse Injektion eine messbare Inulinkonzentration im Blute des zu untersuchenden Patienten herzustellen; ihm einige cm^3 Blut zur Inulingehaltsbestimmung zu entnehmen; den Urin

sorgfältig und in genauen Zeitabständen zu sammeln, seine Menge und sein spezifisches Gewicht zu messen.

b) Chemische Aufgabe: Es ist die quantitative Bestimmung des Inulins im Blute und im Urin durchzuführen. Sie beruht auf der Reaktion des Inulins mit alkoholischem Diphenylamin (8): Inulin geht dabei quantitativ in einen blauen Farbstoff über. Die Intensität der klaren Farblösung wird stufenphotometrisch gemessen. Diese Methode ist sehr empfindlich und erlaubt die Messung von Inulinmengen bis zur Mindestkonzentration von 0,1 mg%.

Die gleiche Reaktion jedoch zeigen auch Fruktose und Glukose. Alving, Rubin und Miller (8) schlagen deshalb vor, das Blutplasma vor der Färbung mit Diphenylamin der Hefegärung zu unterziehen, um den Blutzucker daraus zu eliminieren. Wir fanden jedoch, dass, wenn man den Patienten während der Inulinbestimmung nüchtern hält, der Blutzucker so wenig schwankt, dass die durch die Glukose*schwankung* verursachte Fälschung bei weitem in die sonstige Fehlergrenze der Methode fällt. Blutzuckerschwankungen von 40 mg% ergaben einen nur sehr geringen Farbunterschied, etwa den gleichen, den 0,2 mg% Inulin ausmachen würden. Der Blutzuckergehalt schwankt jedoch beim Nüchternen nicht mehr als 15 mg% während drei Stunden, die man benötigt, um den Inulintest am Patienten auszuführen. Corcoran und Page (9) fanden, dass sich Inulin ca. 130mal stärker färbt als Glukose.

Dieser Blutzucker, den wir nicht aus dem Blute entfernen, verursacht natürlich eine Vertiefung der Farbintensität, die nicht dem Inulin zukommt. Ferner haben verschiedene Stoffe im Blute und auch das Diphenylaminreagens selber eine Eigenfarbe, die auch die Extinktion

erhöhen. Alle diese Faktoren zwingen uns, vor der Inulininjektion eine Blutprobe zu entnehmen, in welcher wir dann den sogenannten *Blutblindwert* stufenphotometrisch bestimmen. Diesen Extinktionswert subtrahiert man nun von den Extinktionen der inulinhaltigen Plasmalösungen. Die hieraus resultierende Differenz entspricht dann der Extinktion des Inulins.

B. Der klinische Teil

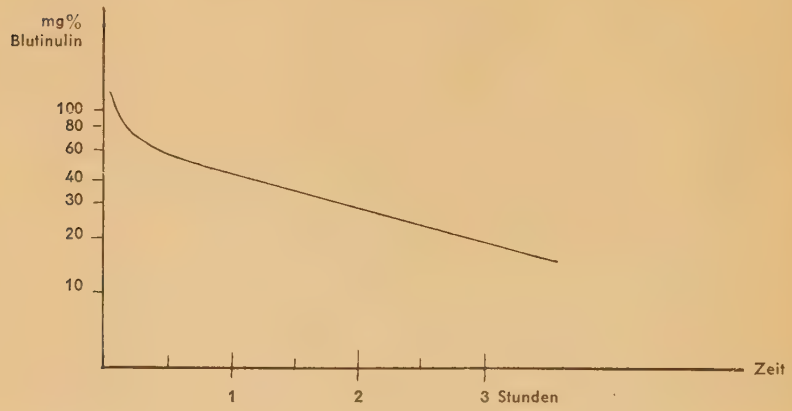
Der zu untersuchende Patient muss nüchtern sein und während des ganzen Versuches, der etwa drei Stunden dauert, im Bett liegen. Auch darf er während dieser Zeit nichts essen, um keine übermässigen Schwankungen im Blutzuckerspiegel zu verursachen. Zweckmässig wird der Versuch morgens angestellt.

Kurz vor der Inulininjektion entnimmt man dem Patienten ca. 5 cm^3 Blut. Wir benötigen 2 cm^3 Plasma zur Bestimmung des Blutblindwertes. Statt Plasma kann man auch ganz allgemein das Blutserum verwenden, es liefert dieselben Blind- und Inulinwerte. Wir verwendeten immer Plasma. Dieses erste Plasma nennen wir Plasma null (P_0). Um eine Gerinnung zu verhindern, verwendet man ein paraffiniertes Zentrifugengläschen, versetzt sogleich nach oder schon während der Entnahme das Blut mit einigen Kristallen Na-Citrat oder einem ähnlichen gerinnungshemmenden Mittel und zentrifugiert sofort nach der Entnahme.

Es folgt die Inulininjektion: Diese wird zweckmässig durch dieselbe Nadel gemacht wie die obige Blutentnahme. Zu diesem Zweck ist die Anwendung eines Dreiweghahnes, wie ihn Dr. Olloz (8) verwendet, von Vorteil.

Man injiziert 50 cm^3 10 % Inulin in physiologischer NaCl-Lösung, also 5 g. Dies ergibt nach 1½ Stunden eine Blutkonzentration zwischen 5 und 15 mg%. Vor der Injektion erwärmt man die sterile Lösung auf Körpertemperatur. Es darf nur sehr langsam injiziert werden.

Alving und Miller (7) haben gefunden, dass das injizierte Inulin gemäss folgender Kurve zur Ausscheidung gelangt:



d. h. nach einer Dauer von weniger als einer Stunde, während welcher das Inulin übermässig stark ausgeschwemmt wird, fällt der Blutinulinspiegel asymptotisch, der logarithmischen Funktion entsprechend, auf Null. Wählt man als Ordinate den dekadischen Logarithmus des Inulingehaltes, ergibt sich eine sich mehr oder weniger stark senkende Gerade. Bei normalen Verhältnissen fällt die Gerade schnell auf Null, d. h. die Niere arbeitet gut. Bei Nephritiden jedoch verläuft die Gerade fast horizontal, was eine träge Nierenarbeit charakterisiert.

Dementsprechend richtet man die Urinsammelperioden folgendermassen ein: Eine Stunde nach der Injektion wird der Urin verworfen; denn die mittlere Inulinkonzentration im Blut ist für diese Periode entsprechend dem ungesetzmässigen Abfall der Blutinulinkurve nicht zu berechnen. Kannder Patient nicht spontan Wasser lassen oder vermag er seine Blase aus irgendeinem Grunde nicht völlig zu entleeren, muss katheterisiert werden. Jetzt erst fängt die erste Urinsammelperiode an. Man wählt sie ungefähr 60 Minuten lang, d. h. aller Urin, der in der folgenden Stunde gelassen wird, wird gesammelt.

Ungefähr in der Mitte der Urinsammelperiode entnimmt man dem Patienten 5 cm^3 Blut und stellt daraus Plasma her; wir nennen es Plasma 1 (P_1). Dieses P_1 enthält ungefähr die mittlere Blutinulinkonzentration für die erste Urinsammelperiode. Dieser ersten schliesst man eine zweite Sammelperiode an, in deren Verlauf man ein drittes Mal Blut entnimmt: P_2. Wir brauchen nämlich zwei Blutwerte, um anhand von diesen die Ausscheidungskurve konstruieren und auf dieser dann die genauen Mittelwerte ablesen zu können. Als Letztes misst man genau die beiden Urinmengen der beiden Urinsammelperioden V_{u1} und V_{u2} und ihre spezifischen Gewichte.

C. Chemisch-physikalischer Teil

a) Folgende *Reagentien* werden gebraucht:

1. Inulinum purissimum (z. B. Siegfried, Zofingen).
2. Diphenylamin «Merck».

   Davon hält man sich eine Stammlösung von 10 % in absolutem reinstem Alkohol. Sie ist in dunkler Flasche kühl aufzubewahren und ca. vier Wochen haltbar.

Zur Herstellung des *Diphenylamin-Reagens* verwendet man:

12 Vol. 10 % Diphenylamin,
+ 112 Vol. reinsten absoluten Äthylalkohol,
+ 50 Vol. conc. reinste HCl.

Dieses Reagens ist auch in dunkler Flasche kühl aufzubewahren. Bei der Verwendung muss es ca. 6 Stunden alt sein, darf aber nicht älter sein als 6 Tage. Sonst zeigt es einen grössern und nicht stabilen Blindwert.

3. Cadmium sulfuricum.

Zur Eiweissfällung benötigt man:

a) das *Cadmiumsulfat-Reagens*, welches besteht aus:

13,0 g ($3CdSO_4 \cdot 8H_2O$),
+ 63,5 cm^3 genau $1n H_2SO_4$,
+ Aqua dest. ad 1000,0.

b) genau 1,1n NaOH. Besonders diese Lösung muss rein sein.

b) Die Eiweissfällung und Verdünnung des Urins.

Die 2 cm^3 P_0, P_1 und P_2 werden mit je 16 cm^3 $CdSO_4$-Reagens beschickt, dann mit je 2 cm^3 1,1n NaOH. Die Kolben müssen leicht geschüttelt werden, um eine gleichmässige Durchmischung und Fällung zu bewirken. Die Eiweissfällung ist erst nach 10 Minuten abgeschlossen, während welcher Zeit man hie und da die Kolben etwas umschüttelt. Nach 10 Minuten wird durch harten Faltenfilter filtriert. Das Filtrat muss wasserklar sein. Ist das nicht der Fall, liegt irgendeine kleine Verunreinigung vor, und der Versuch ist wertlos. Durch diese Eiweissfällung sind die Plasmen 10mal verdünnt worden.

Da im Urin der Inulingehalt 500—1500mal grösser ist, als dem Messbereich der Methode (0,1—2,0 mg%) entspricht, muss er entsprechend verdünnt werden, und zwar je nach der Menge des ausgeschiedenen Urins und der zu erwartenden Nierenleistungsfähigkeit stärker oder schwächer. Einen Anhaltspunkt darüber gibt uns das spezifische Gewicht des Urins. Im allgemeinen muss U_1 stärker verdünnt werden als U_2.

Bei dieser starken Verdünnung wird der Urin wasserklar, so dass seine Farbstoffe und allfällige andere Bestandteile keine störende Rolle mehr bei der nun folgenden Farbreaktion spielen können. Nur ausnahmsweise bei sehr schlechter Nierenfunktion, wo man den Urin nicht stark verdünnen darf, kann dieser einen messbaren Blindwert haben. In diesen Fällen muss vor der Inulininjektion eine Urinprobe gesammelt werden, in welcher man dann den Urinblindwert bestimmt.

c) Die Färbung.

Zur Färbung benötigt man hitze- und druckfeste Reagensgläser von ca. 20 cm^3 Inhalt oder ähnliche Behälter, die auch hermetisch verschliessbar sein müssen. Wir verwendeten das Jenaer schwerschmelzbare «Supremax»-Glas. Als hermetischer Verschluss dienten uns Gummistopfen. Diese müssen aber besonders vorbehandelt werden: sie werden ungefähr ½ Stunde in 10% NaOH gekocht, dann in Wasser mehrmals gespült und kurz gekocht; hierauf müssen die getrockneten Stopfen ungefähr zwei Stunden in Paraffinöl kochen, zweckmässig im Vakuum, damit alle Luft aus den Poren entweicht und sie sich mit Paraffinöl vollsaugen können.

In die Reagensgläser füllt man:

5 cm^3 der inulinhaltigen Lösung (Plasmafiltrat oder verd. Urin).
+ 10 cm^3 Diphenylaminreagens.

Sogleich nach der Abfüllung wird der Gummistopfen mit schraubenden Bewegungen fest eingepfropft und mit einer starken Schnur festgeknotet (Apothekerknoten).

Alle Reagensgläser werden hierauf zur völligen Durchmischung einmal kurz gekippt. Die Lösung muss dabei klar werden; sie ist ein wenig gelblich.

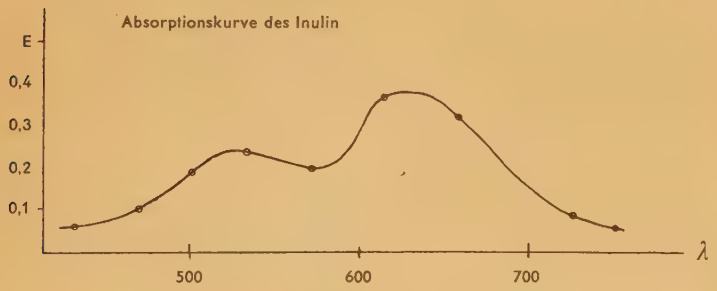
Jetzt stellt man alle Reagensgläser (zweckmässig auf einem Gestell) in ein kochendes Wasserbad. Dort bleiben sie genau 60 Minuten, während welcher Zeit das Wasser ständig kochen muss. Nach 60 Minuten werden die Reagensgläser herausgenommen. Man lässt sie an einem von Licht geschützten Orte auf Zimmertemperatur abkühlen, genau eine Stunde lang. Die letzte Viertelstunde stellt man sie noch in ein Wasserbad von Zimmertemperatur, damit sie nach einer Stunde sicher die Zimmertemperatur angenommen haben. Jetzt erst werden die Gummistopfen entfernt. Die Farbreaktion ist vollendet.

Alle Farblösungen sollen mehr oder weniger azurblau und völlig *klar* sein. Sind sie trüb, so sind sie unbrauchbar. Der Grund liegt in einer vielleicht minimalen Verunreinigung. Deshalb darf nur mit absolut sauberem Glasmaterial und reinsten Reagentien gearbeitet werden.

Die Farbintensität bleibt sicher mindestens 45 Minuten konstant, während welcher Zeit die Messungen mit dem Stufenphotometer durchgeführt werden müssen.

d) Messung mit dem Pulfrichschen Stufenphotometer.

Zuerst müssen wir — ein für allemal — den für unsere blaue Farbe optimalen Filter ermitteln. Man verwendet dazu eine beliebige wässerige Inulinlösung zwischen 0,1 und 2,0 mg%, unterzieht sie dem oben erwähnten Färbeverfahren, wählt die Küvette mit 10,0 mm Schichtdicke und stellt fest, welcher Filter am meisten Licht absorbiert. Dies ist derjenige Filter, mit welchem wir später alle unsere Messungen ausführen werden. Wir verwendeten den S-Filter 610.



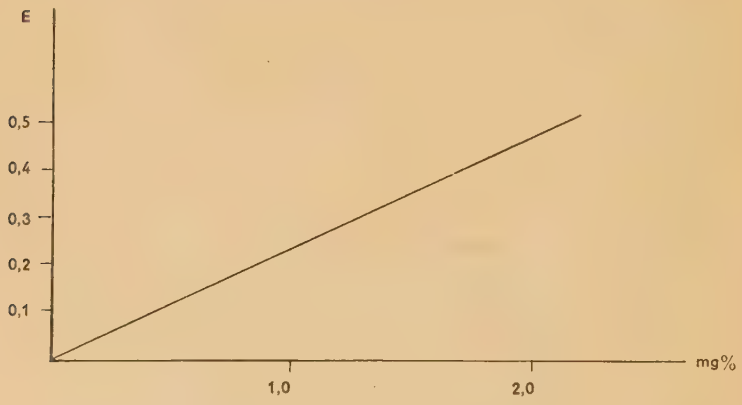
Da das Diphenylamin-Reagens selber einen kleinen Blindwert hat, der etwas schwankt, je nach dem Alter des Reagens, müssen alle Messungen gegen den Diphenylamin-Reagensblindwert gemessen werden. Man kocht also jedesmal im 1. Reagensglas 5 cm^3 Aqua dest. + 10 cm^3 Diphenylamin-Reagens mit und verwendet dann diese Lösung als Gegenwert in der zweiten Küvette des Pulfrichschen Stufenphotometers. Auf diese Weise wird der Blindwert eliminiert. Man kann auch alle Messungen gegen Aqua dest. machen, auch den Reagensblindwert so bestimmen und dessen Extinktion dann von den Extinktionen der Inulinfarblösungen subtrahieren.

Da auch das enteiweisste Plasma (oder Serum) wegen seines Glukosegehaltes einen Blindwert hat, müssen alle Plasmainulin-Lösungen gegen den Plasmablindwert (P_0) gemessen werden.

e) Aufstellung einer Eichkurve.

Man unterzieht eine Reihe bekannter wässeriger Inulinkonzentrationen: 0,2, 0,4, 0,6,... etc. mg% dem Färbeverfahren und misst deren Extinktionen.

Bei Verwendung des Pulfrichschen Stufenphotometers, des Filters S 610, der oben erwähnten Reagentien und bei Anwendung des soeben geschilderten Färbeverfahrens ergab sich als Eichkurve für die Inulinkonzentrationen zwischen 0,1 und 2,0 mg% folgende *Gerade:*



d. h. E ist proportional dem Inulingehalt.

$$E/_{\text{mg\% Inulin}} = 0{,}23$$

$$\text{oder} \quad x\,\text{mg\%} = \frac{Ex}{0{,}23}$$

Auf dieser Geraden kann nun jede Inulinkonzentration ermittelt werden, wenn deren Extinktion bekannt ist.

NB. Da das Inulin je nach Bezugsquelle in seiner Zusammensetzung etwas schwanken kann, empfiehlt es sich, sich selber vor Beginn einer Versuchsreihe eine solche Eichkurve zu ermitteln.

Anhang.

Dieser kurzen Beschreibung der Inulinbestimmung schliessen wir ein kurzes Arbeitsschema an, wie es sich im Laufe der Arbeit als das zweckmässigste herausbildete.

Wir verwendeten 8 Gläser, numerierten sie von 1 bis 8.

Ins Glas

Nr. 1: 5 cm³ Aqua dest. + 10 cm³ Diphenylamin-Reagens
» 2: 5 » P_0-Filtrat + 10 » » »
» 3: 5 » P_1- » + 10 » » »
» 4: 5 » P_2- » + 10 » » »
» 5: 5 » U_1 ca. 600mal verd. + 10 cm³ Diphenylamin-Reagens
» 6: 5 » U_1 » 1200 » » + 10 » » »
» 7: 5 » U_2 » 400 » » + 10 » » »
» 8: 5 » U_2 » 800 » » + 10 » » »

Alle Gläser werden gut verschlossen, gekippt, gekocht und abgekühlt. Das erste Glas enthält den Reagensblindwert, den wir von den wässerigen Urinlösungen subtrahieren müssen. Das zweite Glas enthält den Blutblindwert und gleichzeitig natürlich auch den Reagensblindwert, welche wir von den Farbintensitäten der Lösungen P_1 und P_2 subtrahieren müssen. Wir messen jetzt die Farblösungen 1 4 und je eine Farblösung von U_1 und U_2 (diejenige, die besser in den Messungsbereich

des Stufenphotometers fällt) gegen eine Küvette, die mit Aqua dest. gefüllt ist. Wir verwendeten die Küvetten mit der Schichtdicke 10,0 mm.

Die Extinktion, die uns die Lösung 1 ergibt (Reagensblindwert) müssen wir von den Extinktionen der Urinlösungen U_1 und U_2 subtrahieren.

Desgleichen müssen wir E_2 von E_3 und E_4 subtrahieren.

Die Subtraktion der Extinktionen geht automatisch vor sich, wenn wir die Farblösungen 3 und 4 nicht gegen Wasser, sondern direkt gegen die Lösung 2 messen, analog die Urin-Farblösungen gegen den Reagensblindwert 1. Auf diese direkte Art messen wir jetzt zur Kontrolle der obigen Resultate.

Es ergibt sich daraus folgendes *Mess-Schema:*

a) Reagensblindwert (Glas 1) gegen Aqua dest. = a [1])
b) Plasma 0 (P_0) (» 2) » » » = b
c) Plasma 1 (P_1) (» 3) » » » = c
d) Plasma 2 (P_2) (» 4) » » » = d
e) Urin 1 (U_1) (Glas 5 oder 6) » » » = e
f) Urin 2 (U_2) (Glas 7 oder 8) » » » = f

und dann zur Kontrolle:

g) U_2 (Glas 7 oder 8) gegen Reagensblindwert (Glas 1) = g
h) U_1 (» 5 » 6) » » » = h
i) P_1 (» 3) gegen Plasmablindwert P_0 (Glas 2) = i
k) P_2 (» 4) » » » (» 2) = k

[1]) a sei der gemessene Extinktionswert.

Von diesen Doppelmessungen nimmt man jetzt je den Mittelwert, und somit ist

$$E \text{ für } P_1 = \frac{(c-b)+i}{2}$$

$$E \text{ für } P_2 = \frac{(d-b)+k}{2}$$

$$E \text{ für } U_1 = \frac{(e-a)+h}{2}$$

$$E \text{ für } U_2 = \frac{(f-a)+g}{2}$$

Zu diesen vier Extinktionswerten lesen wir auf der Eichkurve die zugehörigen Inulinwerte ab und nennen sie I_{p1}, I_{p2}, I_{u1} und I_{u2}.

D. Die rechnerische Ermittlung der Inulinclearence

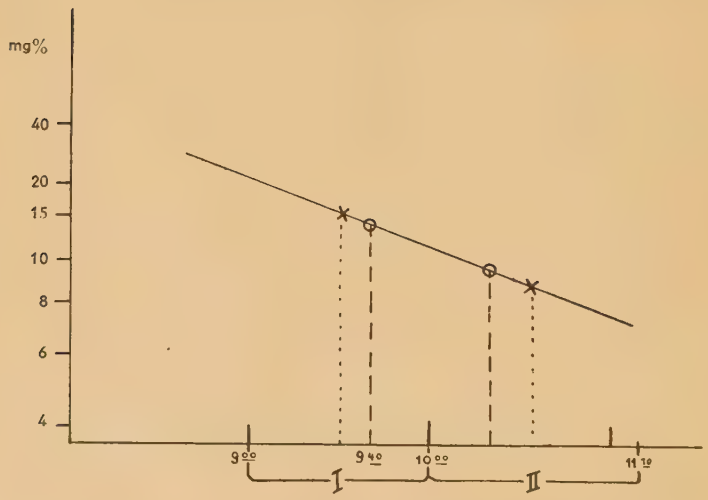
a) Berechnung der genauen mittleren Blutinulinkonzentrationen für die beiden Urinsammelperioden. Haben wir die zwei Blutentnahmen nicht genau in der Mitte der Urinsammelperioden gemacht, sondern etwas früher oder später, so ermittelt man die genauen Mittelwerte folgendermassen:

Wir tragen die gefundenen Inulinwerte für P_1 und P_2 in einem Koordinatensystem ein, auf dessen Ordinate die Inulinkonzentration in mg% *logarithmisch* aufgetragen ist und auf dessen Abszisse in linearem Maßstab die Zeit

und die Urinperioden eingetragen sind. Wir verbinden die beiden Werte mit einer Geraden und lesen auf dieser denjenigen Inulinwert ab, der dem Zeitpunkt entspricht, der genau in die Mitte der betreffenden Sammelperiode fällt.

Ein Beispiel:

Es sei P_0-Entnahme und Inulininjektion um 8 Uhr 00.
Urin verworfen um 9 Uhr 00.
P_1-Entnahme um 9 Uhr 40.
1. Urinsammelperiode abgeschlossen um 10 Uhr 00.
P_2-Entnahme um 10 Uhr 20.
2. Urinsammelperiode abgeschlossen um 11 Uhr 10.



o ... I_{p1} und I_{p2} = gemessene Blutinulinkonzentrationen,
× ... I_{mp1} und I_{mp2} = wahre, mittlere Blutinulinkonzentrationen.

b) Errechnung der Inulinclearence.

Wir kennen nun:

1. die mittleren Inulinkonzentrationen im Plasma I_{mp1} und I_{mp2};
2. die Inulinkonzentrationen im Urin I_{u1} und I_{u2},
3. die Menge ausgeschiedenen Urins pro Minute V_{u1} und V_{u2}.

Die Clearence $V_{p1} = \frac{I_{u1} \cdot V_{u1}}{I_{mp1}}$ und $V_{p2} = \frac{I_{u2} \cdot V_{u2}}{I_{mp2}}$

E. Einige Resultate

Krankheit – Alter – Geschlecht		Vu ccm	Spez. Gew.	Iu mg%	$\frac{Vu \cdot Iu}{100}$ mg	Imp mg%	$\frac{Iu}{Imp}$	$Vp =$ Clear.	R in %
1. Art. sklerose	I	3,05	1010	460	14	15,2	30,1	92,2	96,7
65 J. w.	II	2,67	1011	222,5	5,9	7,6	29,3	78,3	96,7
2. Cerebralsklerose	I	1,4	1021	692,5	9,7	7,25	95,5	133,7	98,8
66 J. m.	II	2,35	1012	300,0	7,1	4,05	74,2	174,5	98,7
3. Hodgkin	I	1,28	1018	1134	14,5	7,6	149	191	99,5
15 J. w.	II	0,67	1022	975	6,5	3,1	314	210	99,5
4. Gastroenteritis	I	1,1	1016	1045	11,5	9,6	109	119,7	99,1
20 J. w.	II	1,35	1019	603	8,1	6,9	87	117,8	98,9
5. Status nach Pneumonie	I	0,72	1017	1170	8,4	7,0	167	120	99,3
30 J. m.	II	0,39	1022	949,2	3,7	4,35	218	84	99,6
6. Progressive Paralyse	I	2,31	1009	488	11,3	10,1	48,3	111,7	98,0
37 J. m.	II	1,26	—	447	5,6	6,05	73,8	93	98,5
7. Multiple Sklerose	I	4,1	1008	492	20,2	7,2	68,3	280	98,6
49 J. m.	II	2,47	1014	369	9,1	4,4	83,9	207	98,7

8. Morbus Cushing	I	3,49	1010	232	8,1	7,8	29,8	104	96,5
14 J. m.	II	6,2	1001	80	5,0	4,3	18,6	115,5	94,7
9. Abgeheiltes Lungeninfiltrat.	I	0,67	1016	770	5,2	7,0	110	73,7	99,1
33 J. w.	II	1,2	1010	312	3,7	5,6	55,7	66,8	98,2
10. Paroxysm. Tachycardie. . .	I	1,25	1021	906,5	11,3	5,5	164,8	206	99,4
21 J. m.	II	0,7	1030	773,5	5,4	3,95	195,8	137	99,5
11. Cholecystitis	I	1,61	1015	717,5	11,5	9,9	72,5	116,7	98,6
46 J. w.	II	0,66	1018	547,5	3,6	6,7	81,7	53,9	98,6
12. Leberechinococcus	I	1,46	1020	680	10,0	8,7	78,2	114,3	98,7
48 J. m.	II	1,2	1020	445,8	5,4	6,0	74,3	89,2	98,7
13. Nephritis in Abheilung . .	I	1,0	1015	882	8,8	8,7	101,4	101,4	99,0
28 J. m.	II	0,4	1027	1188	4,8	5,5	216	86,4	99,4
14. Subakute Nephritis	I	2,3	1010	492	11,3	7,1	69,3	159,4	98,6
20 J. m.	II	0,8	1020	714	5,7	5,6	127,3	102	99,2
15. Chron. Nephritis.	I	1,27	1005	510	6,5	12,45	40.9	52	97,5
41 J. m.	II	0,86	1010	640	5,5	11,2	57,2	49	98,1
16. Nephrose	I	0,88	1016	432	3,8	6,2	69	60,6	98,6
43 J. m.	II	0,5	1020	375	1,9	5,8	64	31,5	98,5

V_u: zeigt grosse Schwankungen. Das rührt einesteils daher, dass wir einigen Patienten während des Versuches etwas Wasser zu trinken gaben, damit überhaupt eine Harnbildung möglich wurde, andernteils aber, dass einige Patienten einfach eine gesteigerte Polyurie aufwiesen (Fälle 7 und 8).

I_u: schwankt zwischen 80 und 1188. Es verhält sich im allgemeinen reziprok zu V_u.

$\frac{V_u \cdot I_u}{100}$: = die pro Minute ausgeschiedene, absolute Menge Inulin in mg, kurz die *Inulinausscheidung*. Sie schwankt zwischen 1,9 und 20,2. Sie ist für die erste Urinperiode durchwegs höher als für die zweite.

I_p: schwankt zwischen 3,1 und 15,2. Von Interesse ist die Differenz zwischen der I. und II. Periode: ist sie gross, so deutet dies auf eine gute Nierenleistung, auf eine schnelle Ausscheidung hin. Die absoluten Werte sind weniger aufschlussreich, weil sie je nach Körpergrösse des Patienten und Menge des injizierten Inulins sehr schwanken können und deshalb keinen Vergleich gestatten.

I_u/I_p: = der *Konzentrationsfaktor* der Nieren. Er schwankt zwischen 18,6 und 218. Er hängt sowohl von der Wasserrückresorption wie auch vom Glomerulusfiltrat ab. Parallel mit ihm steigt und fällt auch das *Rückresorbat R*. Dieses schwankt jedoch in so kleinen Grenzen, dass möglicherweise der stärker schwankende Konzentrationsfaktor sich für die diagnostische Auswertung der tubulären Rückresorption besser eignet. Dies muss

allerdings noch in weiteren Versuchen nachgeprüft werden.

V_p: = die *Inulinclearence* (wäre vielleicht mit «Klärwert» zu übersetzen). Sie schwankt zwischen 31,5 und 280. Dies scheint auf eine starke individuelle und zeitliche Schwankungsbreite der Nierendurchblutung hinzudeuten, da sich ja eine allfällige Permeabilitätsstörung an den Glomeruli nach den eingangs erwähnten Versuchen von Shannon, Smith u. a. für die Inulinausscheidung nicht auswirkt. V_p verhält sich nicht etwa proportional dem Konzentrationsfaktor, sondern steigt und fällt eher parallel der Inulinausscheidung $I_u \cdot V_u$.

Zu Fall 1: deutliche Isosthenurie. V_p an der untern Grenze des Normalen. Die Konzentrationsarbeit der Nieren ist schlecht. Niere vermag nur mit viel Wasser das Inulin auszuschwemmen, deshalb ist auch R abnorm tief.

Zu Fall 3: V_p ist sehr hoch, id. $V_u \cdot I_u$. Der Unterschied zwischen I_{p1} und I_{p2} ist gross. Dies alles ist charakteristisch für eine gute Nierentätigkeit: schnelle Ausscheidung des Inulins und gute Rückresorption (jugendliche Niere).

Zu Fall 7: enorm hohes V_p, aber nicht sehr gute R. Niere braucht viel Wasser zur Ausschwemmung des Inulins, was ihr sehr gut gelingt.

Zu Fall 8: enorme Diurese, abnorm schlechte Konzentrierung, deshalb auch abnorm tiefe R. Hier ist also nur die Tätigkeit der Tubuli ungenügend, was wohl hypophysär bedingt sein mag (Morbus Cushing).

Zu Fall 9: in der ersten Periode gute Konzentrierung, in der zweiten wird das Inulin mehr ausgeschwemmt als

ausgeschieden. V_p etwas tief, schlechte Inulinausscheidung. Möglicherweise spielen hier extrarenale Faktoren, wie wechselnder Blutdruck, eine Rolle.

Zu Fall 10: jugendliche, speditive Niere, V_p und R gut.

Zu Fall 11: in der zweiten Periode deutliches Abfallen von V_p und damit auch der Leistung: Inulinausscheidung nur 3,6 mg/min.

Zu Fall 13: V_p ist etwas tief, sonst arbeitet die Niere wieder gut, besonders der tubuläre Apparat (R und I_u/I_p hoch).

Zu Fall 14: diese Erkrankung scheint die Nierentätigkeit noch nicht stark zu beeinflussen.

Zu Fällen 15 und 16: die Niere ist in jeder Beziehung geschädigt: V_p sehr klein, Differenz zwischen I_{p1} und I_{p2} sehr klein, d. h. die Ausscheidung geht nur träge vor sich, was auch an $V_u \cdot I_u$ ersichtlich ist. Auch die Rückresorption ist schon etwas gestört, und I_u/I_p befindet sich an der untern Grenze des Normalen.

III. Diskussion

A. Kritik der Methode

Die oben beschriebene Methode lässt sich in jeder Klinik durchführen. Irgendwelche Schädigungen durch die Inulininjektion haben wir nicht beobachtet. Auch in USA sind keine solche Fälle publiziert worden. Alving und Miller injizierten 10 g (7), wir begnügten uns mit 5 g. Hingegen öfters beobachteten wir als Reaktion auf das

Inulin eine mehr oder weniger starke Fieberzacke (nach Ablauf des Testes). Auch Kopfweh, Schwindel, hie und da Erbrechen traten auf.

Was das chemisch-technische Problem anbetrifft: die Farbreaktion und die Messung der Farbintensität, sind wir ausgegangen von der Methode, die Alving, Miller und Rubin (8) ausgearbeitet haben. Unüberwindliche technische Schwierigkeiten zwangen uns aber, die Methode abzuändern.

Die wesentlichen Abänderungen sind, sofern sie nicht schon bei der Besprechung der Methodik erwähnt worden sind, etwa folgende:

Die amerikanischen Autoren verlangen nach der einstündigen Kochzeit ein sofortiges Abschrecken der Reagenzgläser in einem Wasserbad auf Zimmertemperatur, um die Farbreaktion abrupt zu unterbrechen. Uns gelang es aber nicht, ein Glas ausfindig zu machen, das diesen Anforderungen gewachsen gewesen wäre. Beim nachfolgenden Versuch explodierten uns 10 –30 % aller Gläser, die vorher schon einmal abgeschreckt worden waren.

So beschlossen wir, das Abschrecken der Gläser durch eine allmähliche Abkühlung auf Zimmertemperatur zu ersetzen. Bis wirklicher Temperaturausgleich stattgefunden hat, dauert es, wie wir feststellten, eine Stunde. Um ganz sicher zu gehen, dass nach einer Stunde wirklich Zimmertemperatur in den Gläsern herrscht, stellten wir die Gläser die letzte Viertelstunde in ein Wasserbad von Zimmertemperatur. Nach dieser Abkühlzeit erhielten wir Farblösungen, die ihre Farbintensität für mindestens 45 Minuten vom Zeitpunkt des Entkorkens nicht ändern. Die Resultate zeigt folgende Tabelle Nr. 1.

Extinktion gemäss Eichkurve	1. Nach 1 Stunde entkorkt und gemessen		2. Nach 1½ Stunden gleiche Proben gemessen		3. Nach 2½ Stunden gleiche Proben gemessen	
	E	Fehler %	E	Fehler %	E	Fehler %
0,057	0,062	+ 8,7	0,066	+ 15,6	0,042	— 26,3
0,172	0,175	+ 1,8	0,181	+ 5,2	0,135	— 22,0
0,310	0,312	+ 0,5	0,323	+ 4,2	0,286	— 7,7
0,356	0,351	— 1,2	0,357	+ 0,2	0,327	— 8,2
0,402	0,381	— 5,0	0,398	— 0,7	0,373	— 7,1
0,448	0,445	— 0,7	0,446	— 0,4	0,414	— 8,4

Es ist zu bedenken, dass das Stufenphotometer selber eine Fehlerquelle in sich birgt: der Ablesungsfehler kann im Extinktionswert eine Schwankung von $\pm$ 0,01 ausmachen, in mg% ausgedrückt: von ca. $\pm$ 0,04 mg%. Dieser Ablesungsfehler wirkt sich bei kleinen Inulinmengen stark aus. Bei einer Inulinkonzentration von 0,25 mg% macht dies einen Fehler von ca. $\pm$ 18 % aus. Jedoch bei einer Inulinkonzentration von 2,0 mg% nur mehr einen Fehler von $\pm$ 2 %. Deshalb sind in der oben angeführten Tabelle die Fehler für die kleinen Konzentrationen so gross. Aus der Rubrik 3 wird ersichtlich, dass durchgehend mit der Zeit eine Abblassung stattfindet.

Wenn wir hingegen schon nach einer halben Stunde entkorkten und die Messung ausführten, ergaben sich zu hohe, unstabile Farbintensitäten, die im Laufe der folgenden Stunde deutlich abnahmen. Der Grund für diese schnelle Aufhellung liegt wohl darin, dass nach einer halben Stunde die Gläser noch nicht ganz abgekühlt sind und dass deshalb in ihnen noch ein starker Überdruck

herrscht. Dies konnten wir beim Entkorken der Gläser auch feststellen. Dieser Überdruck bedingt wahrscheinlich die stärkere Farbintensität und sein plötzliches Verschwinden (durch vorzeitiges Öffnen des Reagenzglases) eine beschleunigte Aufhellung. Diese Verhältnisse illustriert Tabelle 2.

Extinktion der zugegebenen Inulinmenge E	1. Nach 30 Minuten entkorkt und gemessen		2. Nach 90 Minuten gleiche Proben gemessen		3. Nach 150 Minuten gleiche Proben gemessen	
	E	Fehler %	E	Fehler %	E	Fehler %
0,057	—	—	0,054	— 5,5	0,043	— 24,5
0,172	0,170	— 0,7	0,163	— 5,2	0,153	— 11,7
0,310	0,344	+ 10,0	0,337	+ 8,7	0,301	— 2,7
0,356	0,396	+ 10,4	0,384	+ 7,9	0,362	+ 1,7
0,402	0,406	+ 1,0	0,405	+ 0,8	0,368	— 8,5
0,448	0,520	+ 16,0	0,480	+ 7,2	0,406	— 9,5

Aus Tabelle 1 und Tabelle 2 ist ersichtlich, dass eine vollständige Abkühlung und ein damit verbundener langsamer Druckausgleich eine nur langsame Farbaufhellung zur Folge haben. Deshalb wählten wir diese einstündige Abkühldauer. So erhielten wir für die Dauer von mindestens 45 Minuten konstante Werte und bauten auf ihnen unsere Eichkurve auf.

Merkwürdigerweise erhielten wir als Eich-«Kurve» eine dem Lambertschen Gesetz entsprechende Gerade im Gegensatz zu Alving, Miller und Rubin (8), die eine Kurve erhielten. Allerdings machten sie die Messungen mit dem lichtelektrischen Evelyn-Colorimeter und nicht mit dem Pulfrichschen Stufenphotometer.

B. Bedeutung der Inulinclearence

Die Inulinclearence ist als Mass für die Wasserresorption besonders im Vergleich mit anderen Clearences von grossem Interesse. Z. B. an der Differenz zwischen der Harnstoff- und der Inulinclearence ist die Rückresorption des Harnstoffs durch die Tubuli leicht ersichtlich [s. auch (7)].

Ist eine andere Clearence höher als die Inulinclearence, z. B. diejenige des Kreatinin, so ist dies nur möglich, wenn Kreatinin auch noch aktiv durch die Tubuli sezerniert wird. Tatsächlich haben verschiedene amerikanische Autoren (2) durch den Vergleich dieser beiden Clearences feststellen können, dass in bestimmten Fällen, so z. B. bei Nephritikern, Kreatinin auch durch die Tubuli sezerniert werden muss. Damit scheint bewiesen zu sein, dass man die Kreatininausscheidung nicht als Mass für die Glomerulusfiltration ansehen darf, wie dies einige Autoren tun (10).

Mit Hilfe der Inulinausscheidung sind wir also imstande, verschiedene wertvolle Einzelheiten der Nierentätigkeit, wie Filtration, Rückresorption und Sekretion, zu fassen.

IV. Zusammenfassung

Amerikanische Forscher haben im Inulin, einem Polysaccharid, einen Stoff entdeckt, der die Eigenschaft besitzt, unverändert und quantitativ durch die Nieren ausgeschieden zu werden, wenn er parenteral in den Säugetierkörper gebracht wird. Die Ausscheidung geschieht ausschliesslich durch Filtration durch die Glomeruli.

Dank dieser Eigenschaft des Inulins kann man aus den Konzentrationen dieses Stoffes im Blut und Urin die Konzentrationsarbeit der Niere berechnen. Multipliziert man diesen Konzentrationsfaktor mit der pro Minute ausgeschiedenen Menge Urin, erhält man eine Grösse, die derjenigen Menge Plasma gleichzusetzen ist, die pro Minute von seinem Inulingehalt durch Ultrafiltration befreit («gereinigt») wird. Diese Grösse heisst die *Inulinclearence* (wäre vielleicht etwa mit «Klärwert» zu übersetzen) und ist auch der Menge Glomerulusfiltrat, die pro Minute gebildet wird, gleichzusetzen. Damit haben wir ein Mass für die Glomerulusarbeit einerseits und — durch Subtraktion der endgültigen Urinmenge von dieser Glomerulusfiltratmenge — andererseits auch für die Resorptionsarbeit der Tubuli.

Die Methode. Es werden 5 g Inulin intravenös injiziert und nach einer bestimmten Zeit dem Patienten Blut entnommen und dessen Urin in zwei Sammelperioden gesammelt zur Inulingehaltsbestimmung. Inulin reagiert mit alkohol. Diphenylamin, indem es einen blauen Farb-

stoff bildet. Die Intensität dieses Farbstoffes wird stufenphotometrisch bestimmt. Darauf beruht die quantitative Bestimmung des Inulins im Blut und Urin.

Die Messungen ergaben bei nierengesunden Individuen durchschnittliche Clearencewerte von 100—180 cm^3/min. und ein Rückresorbat von 98—99,6 %.

Der Inulintest ist besonders im Vergleich mit den Clearences anderer Stoffe von Interesse. Findet man z. B. für Harnstoff eine kleinere Clearence als gleichzeitig für Inulin, so bedeutet dies nichts anderes, als dass Harnstoff durch die Tubuli zum Teil, der Differenz entsprechend, rückresorbiert worden sein muss. Umgekehrt: wenn z. B. das endogene Kreatinin einen höhern Clearencewert als Inulin hat, so ist dies durch eine zusätzliche, aktive Sekretion von seiten der Tubuli bedingt.

Die oben beschriebene Methode, die uns ein direktes Mass für die Glomerulusfiltratmenge und die Wasserrückresorption in die Hand gibt, wird also bei Untersuchungen der Nierenfunktion wertvolle Dienste leisten können.

Literaturverzeichnis

(1) *a) Ambard L.* Rapports entre le taux de l'urée dans le sang et l'élimination de l'urée dans l'urine. Compt. rend. Soc. de biol. *69*, 411 (1910).

b) Addis T. The Ratio Between the Urea Content of the Urine and the Blood after the Administration of Large Quantities of Urea: An Approximate Index of the Quantity of Actively Functioning Kidney Tissue. J. Urol. *1*, 236 (June 1917).

c) Möller E. McIntosh J. F. and van Slyke D. D.: Studies of Urea Excretion by Normal Adults. J. Clin. Invest. *6*, 427 (Dec. 1928).

(2) *Miller B. F.* and *Winkler A.* Renal Excretion of Endogenous Creatinine in Man: Comparison with Exogenous Creatinine and Inulin. J. Clin. Invest. *17*, 31 (1937).

(3) *Richards A. N., Westfall B. B.* and *Bott P. A.* Renal Excretion of Inulin, Creatinine and Xylose in Normal Dogs. Proc. Soc. Exp. Bol. and Med. *32*, 73 (1934).

(4) *Shannon J. A.* and *Smith H. W.* J. Clin. Invest. *14*, 393 (1935).

(5) *Smith H. W.* The Physiology of the Kidney, New York, Oxford University Press 1937, b. The Kidney, Ann. Rev. Physiol. *1*, 503 (1939).

(6) *Miller B. F., Alving A. S.* and *Rubin J.* The Renal Excretion of Inulin at Low Plasma Concentrations of This Compound, and Its Relationship to the Glomerular Filtration Rate in Normal, Nephritic and Hypertensive Individuels. J. Clin. Invest. *19*, 89 (1940).

(7) *Alving A. S.* and *Miller B. F.* A Practical Method for the Measurement of Glomerular Filtration Rate (Inulin Clearence). Arch. of Int. Med. *66*, 304 (1940).

(8) *Alving A. S., Rubin J.* and *Miller B. F.* A Direct Colorimetric Method for the Determination of Inulin in Blood and Urine. J. of Biol. Chem. *127*, 609 (1939).

(9) *Corcoran A. C.* and *Page I. H.* Application of Diphenylamine in the Determination of Levulose in Biological Media. J. of Biol. Chem. *127*, 600 (1939).

(10) *a) H. Popper* und *E. Mandel.* Filtrations- und Resorptionsleistung in der Nierenpathologie. Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde *53*, 685 (1937).

b) Steinitz K., Türkand H. The Determination of Glomerular Filtration by Endogenous Creatinine Clearence. J. Clin. Invest. *19*, 285 (1940).

(11) *M. Olloz.* Zur Methodik der wiederholten Blutmengenbestimmung. Deutsches Archiv für klinische Medizin 1936, S. 647.